

# アルメニアの天然染料染色布の試薬呈色試験と高速液体クロマトグラフィー分析 (HPLC-PDA)

－アカネ、アルメニアコチニール、キバナマツムシソウ

石井 美恵\*, 柴山 伸子\*\*

Reagent Color Test and HPLC-PDA Analysis of Armenian Natural Dyes,  
Madder, Armenian Cochineal and Yellow Scabiosa

Mie ISHII\*, Nobuko SHIBAYAMA\*\*

## 要 旨

アルメニアの染織文化財の染料分析を目的にアルメニアの3種類の天然染料染色布を試薬呈色試験とHPLC-PDAで分析した。その結果、試薬呈色試験では酢酸、アンモニア、蒸留水による染色布の呈色は、アカネ染色布が西洋アカネと、アルメニアコチニールが既知のアメリカンコチニールと、キバナマツムシソウがフラボノイド系染料と同じ呈色を示した。HPLC-PDA分析では、アカネ染色布からはアリザリンとプルプリン、ムンジスチンとプソイドプルプリンが検出され、*Rubia tinctorum*の主成分と一致した。アルメニアコチニール染色布からはカルミン酸と2-C-フラボケルメシン酸のグルコピラノシド (dc II)、4-アミノカルミン酸 (dc III)、ケルメシン酸の2-C- $\alpha/\beta$ -グルコフラボシド (dc IVとdc VII)、ケルメシン酸 (KA) とフラボケルメシン酸 (FA) の可能性が示唆されたが、これらの成分はアメリカンコチニールとも一致するので、本研究の実験方法では成分の類する2つの昆虫系赤色染料を区別することはできなかった。キバナマツムシソウからはケルセチン、ルテオリンが検出され、さらにルテオリン7-O-グルコシドも存在する可能性が示唆され、フラボノイド系色素であることが判明した。

## はじめに

アルメニアは南コーカサス地域に位置し、西にトルコとジョージア、東にアゼルバイジャン、南をイランに囲まれた二重内陸国である。2011-2014年まで国際交流基金の事業でアルメニア国立歴史博物館において染織品の保存修復ワークショップを行った<sup>1</sup>。その際に同館の民俗学者リリア・アヴァネシアン博士とマロ・ハルツルヤン染織品保存修復室長からアルメニアの染織文化財の染料鑑別への協力を依頼され、

\* 佐賀大学芸術地域デザイン学部 地域デザインコース







Course of Regional Design, Faculty of Art & Regional Design, Saga University

\*\* メトロポリタン美術館保存科学部

The Metropolitan Museum of Art, Scientific Research

**Table 1 Armenian natural dyes used in this experiment.**

Given by Dr. Lilia Avanesyan, Ethnographer, History Museum of Armenia, 4. 12. 2012.

Scientific name and common name	Photograph	Color of silk dyed with alum mordant
<i>Rubia tinctorum</i> L. Madder Toron in Armenian		Orange-red 
<i>Porphyrophora hameli</i> (Brandt) Armenian cochineal, Vordan karmir in Armenian		Pink 
<i>Cephalaria procera</i> Cephalaria Ghantapi in Armenian, Garank in Vaspurakan Bogi in Ijevan region		Yellow 

3種類の天然染料のアカネ、アルメニアコチニール、キバナマツムシソウを手渡された<sup>2</sup>。(Table 1) アカネはアルメニア語でトロソ (Torn) と呼び、*Rubia tinctorum* に類する植物と考えられた。アカネはコーカサス地域で広く栽培されており、乾燥した根を煎じてハーブティーとして飲んだり、染料としてアルメニア絨毯の赤色に使用されている。アルメニアコチニール (*Porphyrophora hamelii* (Brandt)) はアルメニア語でヴォルタンカルミール (Vortan Karmir) と呼ばれ「赤い虫」を意味し、アララト山の麓付近に生息する貴重な昆虫染料で、アルメニア正教会の写本にも使用された。ヨーロッパや中央アジアで珍重されてペルシャではキルミズ (Kirmiz) と呼ばれた。緋色を表す英語のクリムゾン (Crimson) の語源である<sup>3</sup>。現在の国境ではアララト山はトルコ側にあるため、アルメニア国内でもアルメニアコチニールの入手はたいへん難しく、その貴重さはアヴァネシアン博士が小さな試料袋に入ったアルメニアコチニールを分析のために3匹提供してくれたことから分かった。キバナマツムシソウはアルメニア語でガンタピ (Ghantapi) と呼ばれ、*Cephalaria procera* に類する植物と考えられた。アルメニアをはじめコーカサス地域に広く分布しており、初夏に黄色い花をつける。現在は染料としてよりもハーブティーとして煎じて飲まれている<sup>4-5</sup>。これらアルメニアの3種の天然染料を染織文化財から鑑別することを大目標に掲げ、その指針となる情報を得ることを本研究の目的とし、標準染色布を作成して試薬呈色試験と高速液体クロマトグラフィー (HPLC-PDA) で分析し、キャラクタリゼーションを行った。なお染色布の制作と試薬呈色試験は石井が、HPLC分析は柴山が分担した。

## 1. 標準染色布の作成

標準染色布の作成法は Schweppe<sup>6</sup>を参照した。染色布には JISL0803準拠の添付白布の絹（14匁）、毛、綿を用いた。ただアルメニアコチニールは染料の量がわずかであったため、絹のみ染色した。明礬は田中直染料店から購入した。

染料はアカネが布の重さの100%、明礬は布の重さの15%、アルメニアコチニールは2虫（0.03g）をすり潰し、布の重さの15%の明礬、キバナマツムシソウは布の重さの200%と明礬を布の重さの15%を計量して用いた。

布の媒染は、布の重さに対して水の量を200%（浴比1：200）計量し、ステンレス製の鍋に水と明礬をいれて溶かし、50℃で布を入れ20分間繰り、水洗いした。次に染色は布の重さに対して200%の水で（浴比1：200）で染料を煮出して濾し、染浴とした。これに媒染した布を入れ、温度を徐々に上げ50–70℃で20分間繰った。そして40℃まで温度を下げ、水ですすぎ、タオルで水分を吸い取り、室内に干した。（Table 1）

## 2. 試薬呈色試験

試薬呈色試験は Schweppe<sup>7</sup>を参照した。これは天然染料染色布を酸性、中性、塩基性の水溶液に浸し、染色布の色変化、色素の溶媒への抽出を観察し、その特徴により染料を判別する簡易分析法である。博物館の保存修復室で実施可能であり、本件研究で行った機器分析の結果と総合的に考えることで、ある程度の判断が可能であると考えられた。

試薬は25%アンモニウム水溶液（NH<sub>3</sub>OH）、99.6%酢酸（氷酢酸 C<sub>2</sub>H<sub>4</sub>O<sub>2</sub>）、蒸留水（いずれも和光純薬工業）を用いた。染色布を5 x 5 mmに裁断し、試験管に試薬を3–4滴入れ、染色布（絹の明礬媒染）をピンセットで試験管にいれた。そして染色布の色の变化、色素の溶媒への溶出を観察した。結果を Table 2 に示す。アカネは Schweppe の西洋アカネの反応と一致し、赤オレンジの染色布色は酸でオレンジに変色し、溶液が黄色になり、アルカリで赤に変色したが、蒸留水では変化がなかった。アルメニアコチニールはアメリカコチニールの反応と一致し、ピンクの染色布が酸でうすいオレンジに変色し溶液がわずかにオレンジになり、アルカリではうすい紫になり、蒸留水では変化がなかった。キバナマツムシソウの染色布は黄色で、酸で色がうすくなり、アルカリでわずかに濃くなったが、蒸留水では変化がなかった。これらの結果からアルメニアのアカネは西洋アカネ、アルメニアコチニールは Schweppe のアメリカコチニールに類似すると考えられた。Schweppe はキバナマツムシソウを試験しておらず、結果を比較できなかったが、

Table 2 Result of solubility test of Armenian dyes dyed on silk with alum mordant.

Dye and color of fabric	99.6% Acetic acid (pH 2)	Distilled water (pH 7)	25% Ammonia (pH 11)
<i>Rubia tinctorum</i> Orange-red	Fiber: ○ orange Solution: ○ yellow	Fiber: × Solution: ×	Fiber: red Solution: ×
<i>Porphyrophora hameli</i> Light pink	Fiber: ○ orange Solution: ○ orange	Fiber: × Solution: ×	Fiber: light purple Solution: ×
<i>Cephalaria procera</i> Yellow	Fiber: light yellow Solution: yellow	Fiber: × Solution: ×	Fiber: △darker yellow Solution: ×

Notations: × no change ○ change △ slight change

ヨーロッパの黄色系染料であるキバナモクセイソウと反応が似ていることからフラボノイド系色素の染料であると推察された。実際の染織文化財の試薬呈色試験において、同様の試験を実施する際は、実資料から糸の採取を所有者から許可された場合に限り、採取する試料は糸1センチ程度とする必要がある。試験はろ紙の上で試薬を滴下して反応を観察するなど、微小試料の試験では応用が必要である。

### 3. 染料および染色布の高速液体クロマトグラフィー分析

染織文化財やその他の文化財に使用された有機天然染料や有機顔料の分析法の最近の発展には、次のようなものがある。光ファイバーを用いた紫外可視近赤外反射分光分析法 (UV-Vis-NIR FORS)<sup>8-9</sup>、表面増強ラマン散乱分光分析法 (SERS)<sup>10</sup>、液体クロマトグラフィーダイオードアレイ紫外可視分光分析法質量分析法 (HPLC-PDA-MS) 等である<sup>11-12</sup>。また、以前より使われてきた方法としては、薄層クロマトグラフィー (TLC)、反応溶液の色変化、紫外光下での試料の観察等がある<sup>13</sup>。各々の分析法に、それぞれの長所短所があるが、これらの方法はすべて、貴重な文化財を分析の為に損ねない様に、非破壊分析か、微量の試料の採取のみで行われる。

アルメニアの染料分析は、ダイオードアレイ紫外可視分光分析法を検出器に用いた液体クロマトグラフィー (HPLC-PDA) を使用して行った。この方法では、染織品より採取した微量の糸や布片の試料から染料成分を試薬で抽出し、その抽出液を HPLC-PDA で分析した。HPLC-PDA 法では、染料分子は、カラムに詰められた物質 (固相) と、そのカラムに流される溶媒 (移動相) への親和性の違いで、分離される。Fig. 1 と Fig. 2 に装置の写真と概略図を示した。カラムで分離された各々の染料分子は、ダイオードアレイ紫外可視分光分析検出器で、その紫外可視吸収スペクトルが測定される。各々の色素化合物は、個々に特有のスペクトルを示し、その化合物のスペクトルと、カラムより流出した時間 (保持時間) が、標品の色素化合物の保持時間とスペクトルの両方と一致した場合、その色素化合物は、標品と同一の化合物と判断できる。そして、その色素化合物を主要色素として含む天然染料が、その染織品に使用されたと考えることができる。

#### 3. 1. 実験方法

##### 3. 1. 1 試料

アルメニアコチニールとの比較として中南米のアメリカコチニールで染めた絹試料を実験に用いたが、



Fig. 1 High performance liquid chromatography – photodiode array detector (HPLC-PDA)

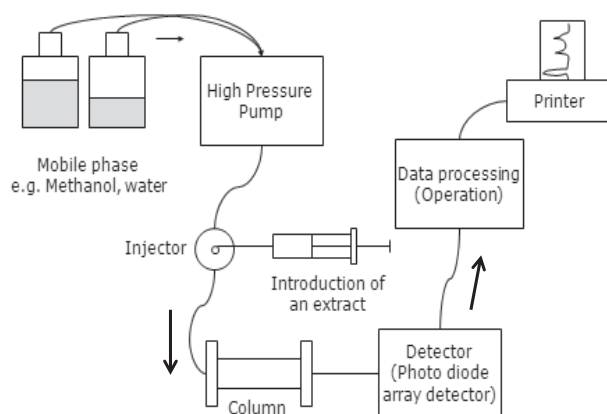


Fig. 2 Schematic diagram of HPLC-PDA



これは柴山が明礬と酒石酸を媒染剤として染めて準備した。標品のアリザリン、プルプリン、クエルセチン、カルミン酸は Sigma-Aldrich Co. LLC (St. Louis, MO) より購入した。ルテオリン、ルテオリン 7-O-グルコシドは ChromaDex Corporate (Irvine, CA) より、メタノール、蟻酸、塩酸、シュウ酸、ピリジン、エチレンジアミン四酢酸二ナトリウムは、高速液体クロマトグラフィー用、或は分析用の試薬を使用し、Fisher Scientific (Pittsburg PA) より購入した。イオン交換水を高速液体クロマトグラフィーの移動相の溶媒に使用した。

### 3.2 色素の抽出方法

#### 3.2.1 アカネで染めた試料

試料は、試験管中で、50  $\mu$ l の 0.01M シュウ酸水溶液、ピリジン、メタノールの混合液 (3 : 3 : 4 v/v) を使用し、室温30分、引き続き、ドライインキュベーターを使用し、65℃で20分間、抽出操作を行った。抽出物はインサートバイアルに移した。試験管は25  $\mu$ l のメタノールですすぎ、その溶液もインサートバイアルに加えた。同量の混合液を再び、試料を含む試験管に加え、95℃で10分間抽出を行い、その抽出液は、再び、インサートバイアルに加えた。抽出物は、デシケーター中で、アスピレーターで減圧乾燥した。残渣は、15  $\mu$ l のメタノールに溶かし、更に、15  $\mu$ l の 0.88% 蟻酸水溶液 (v/v) を加え、混ぜた。その溶液は10分間 7000 RPM/g で遠心機に掛け、上澄み液を HPLC で分析した。

#### 3.2.2 アルメニアコチニールとアメリカコチニールで染めた試料

試料は、試験管中で、100  $\mu$ l の 1N 塩酸水溶液とメタノールの混合液 (6 : 4 v/v) を使用し、ドライインキュベーター中で、95℃で10分間、抽出操作を行った。抽出物は、インサートバイアルに移し、50  $\mu$ l のメタノールで試験管をすすぎ、その溶液も、インサートバイアルに加えた。抽出物は、デシケーターの中(デシケーターの底に、気化した酸を中和するために水酸化ナトリウムを入れた)で、アスピレーターを使い減圧乾燥させた。残渣は、15  $\mu$ l のメタノールに溶かし、更に、15  $\mu$ l の 0.88% 蟻酸水溶液 (v/v) を加え、混ぜた。その溶液は10分間 7000 RPM/g で遠心機に掛け、上澄み液を HPLC で分析した。

#### 3.2.3 キバナマツムシソウで染めた試料

試料は、試験管中で、100  $\mu$ l の 0.001M エチレンジアミン四酢酸二ナトリウム水溶液とメタノールの混合液 (6 : 4 v/v) を使用し、1時間室温に、引き続き、ドライインキュベーター中で、65℃で20分間、抽出操作を行った。抽出物は、インサートバイアルに移し、50  $\mu$ l のメタノールで試験管をすすぎ、その溶液も、インサートバイアルに加えた。抽出物は、デシケーター中で、アスピレーターで減圧乾燥させた。残渣は、20  $\mu$ l のメタノールと 0.88% 蟻酸水溶液 (7 : 3 v/v) の混合溶液に溶かした。その溶液は10分間遠心機に掛け、上澄み液を HPLC で分析した。

### 3.3 HPLC の分析条件

分析機器は、Waters1525  $\mu$  バイナリー HPLC ポンプ、Waters 2996PDA 検出器、Waters 1500シリーズカラムヒーター、Waters インライン脱気装置、Rheodyne 7725i 手動インジェクター (20  $\mu$ l のループ) で構成されている (Waters Corporation, Milford MA)。カラムは、Xterra RP<sub>18</sub> 逆相カラム (3.5  $\mu$ m, 内径2.1 mm x 150.0 mm) を、ガードカラム (Xterra RP<sub>18</sub> 3.5  $\mu$ m, 内径2.0 mm x 10.0 mm) と直結し、使用した (Waters Corporation, Milford MA)。流速は、0.2 ml/min に設定した。カラムプレフィルター (Upchurch ultra-low Volume pre-column filter, 0.5  $\mu$ m ステンレススチールフリット、Sigma-

Aldrich, St.Louis, MO)をガードカラムの前に装着した。カラムの温度は40℃に設定した。移動相は0.88% 蟻酸水溶液 (v/v) (A) とメタノール (B) を使用し、グラジエント溶出を行った。グラジエントのプログラムは、(A) 溶液90%を3分間保持、次の7分で直線的スロープで(A) 溶液を60%にし、次の20分で直線的スロープで(A) 溶液を12%にし、次の12分は、(A) 溶液をそのまま12%にして流出した。分析機器の操作とデータ処理は、Empower Pro (2002) で行った。

### 3.4 分析結果

3種類のアルメニアの天然染料、アカネ、アルメニアコチニール、キバナマツムシソウを、HPLC-PDAにより分析した結果を次に示す。

#### 3.4.1 アカネ

アカネ系の天然染料は、赤色系を染めるためにもっとも良く使用された染料植物である。多くのアカネ系の染料植物は、Rubiaceae 科に属している。例えば、欧州でよく使用された Dyer's madder (*Rubia tinctorum*) や Wild madder (*Rubia peregrina*)、アジアでよく使用された Munjeet (*Rubia cordifolia*) や日本茜 (*Rubia akane*) 等がある。アカネの主要色素は、アントラキノン誘導体で (Fig. 3)、アカネ植物に含まれる種々のアントラキノン誘導体の比率は、アカネの種類により異なる<sup>14</sup>。

Fig. 3 に、水道水、またはアルカリ溶液で最後にすすいだアカネ染めの絹と羊毛の試料の抽出液の分析結果と、標品のアリザリンとプルプリンの結果を、波長500 nm で示した。検出された主要色素ピーク、21.9分と25.1分の保持時間と紫外可視吸収スペクトルが、それぞれ、標準品のアリザリンとプルプリンと同様であった (Fig. 3)。このアカネは、Dyer's madder (*Rubia tinctorum*) で、その主要色素は、アリザリンとプルプリンと報告されており、その報告と同様の結果であった<sup>15</sup>。Dyer's madder はアルメニアを含むコーカサス地域、中近東と東地中海が起源であり、欧州に移植され、アジア、アフリカ、アメリカにも持ち込まれたと報告されている<sup>16</sup>。Fig. 3 のクロマトグラムの23.4分の一つのピークには、2つの成分、ムンジスチンとプソイドプルプリンが流出している様子で、これらの色素成分も、また、Dyer's madder に見出されるものと報告されている<sup>17</sup>。試料からの抽出物のクロマトグラムに検出されているアリザリンのピークに対するプソイドプルプリン、ムンジスチン、プルプリンのピークの全体量の比率は、羊毛の試料の方が、絹の試料よりも大きいことが観察される。水道水ですすいだ絹の試料は橙色、アルカリ水ですすいだ絹の試料は赤色、水道水ですすいだ羊毛の試料は赤色、アルカリですすいだ羊毛の試料それより少し濃い赤色になっている。プソイドプルプリンとプルプリンの最大級吸収波長は、可視部において、およそ、480 nm であり、アリザリンのそれは、420 nm で (ここで使用された HPLC の移動相に使用された溶媒の pH において)、アリザリンの溶液の方がより黄色であることを示している。絹試料の抽出物にアリザリンが多く検出された結果は、水道水ですすいだ絹試料が、羊毛試料より、橙色をしている事を示していると思われる。また、絹試料の、水道水ですすいだ試料とアルカリですすいだ試料の間の大きな色変化は、アリザリンの比率の大きさに起因している可能性が考えられる。絹上のアリザリンは、アルカリ水でリンスした場合、プソイドプルプリンとプルプリンよりも、より大きな色 (赤方偏移) を起こした可能性がある。

#### 3.4.2 アルメニアコチニール

アルメニアのコチニール (*Porphyrophora hamelli*) は、赤色染料として使用された昆虫である。他の昆虫染料には、欧州のケルメス (*Kermes vermillio*)、ポーランドのコチニール (*Porphyrophora polonica*)、

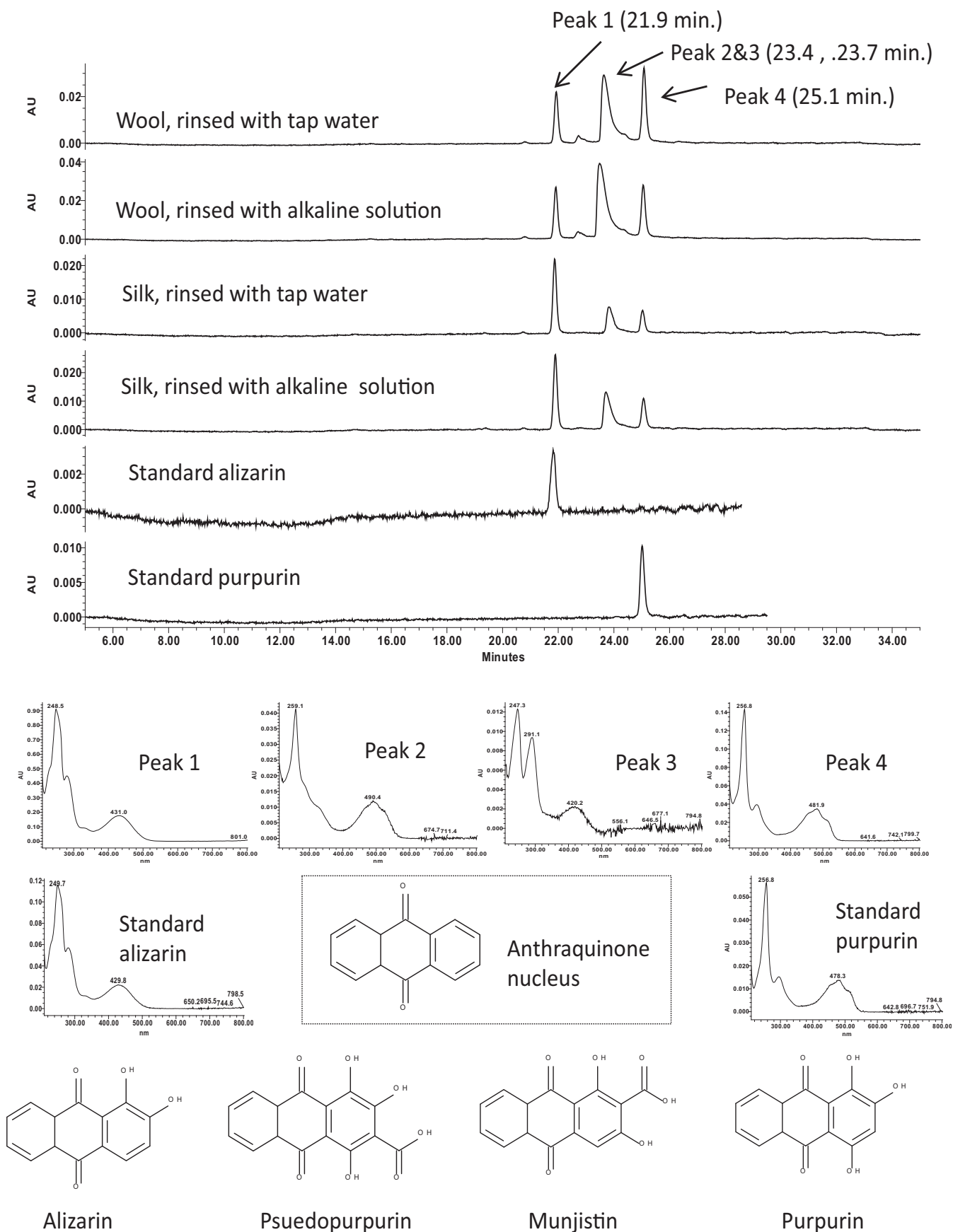


Fig. 3 Chromatograms at 500nm of the extracts from samples dyed with Armenian madder and standards alizarin and purpurin, and UV spectra of those main peaks and standards.

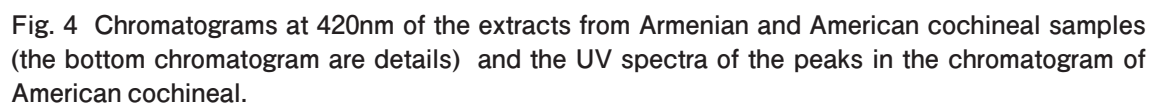




Table 3 Comparison of major components of red insect dyes<sup>21-22</sup>.

Name	Coccus type	Region	Chemical component				
			carminic acid	flavokermesic acid	kermesic acid	dcII	laccaic acid
Vordan Karmir (Armenian Cochineal)	<i>Porphyrophora hameli</i> Brandt	Armenia, Azerbaijan, Arrarat	○	○	○	○	—
Polish cochineal	<i>Porphyrophora polonica</i> Linnaeus	Middle and Eastern Europe, Germany, Poland, Ukraine	○	○	○	○	—
Kermes	<i>Kermes vermilio</i> Planchon	Southern Europe, Near East, Turkey	—	○	○	—	—
Lac	<i>Kerria lacca</i>	India, South East Asia	—	○	○	—	A, B
Cochineal (American cochineal)	<i>Dactylopius coccus</i> Costa	Mexico, South America	○	○	○	○	—

アジアのラック (*Kerria lacca*)、中南米のコチニール (*Dactylopius coccus*) などがある<sup>18</sup>。これらの昆虫染料により染められたエンジ色（臙脂色）は、大変好まれた。アメリカ大陸が発見された後、アメリカのコチニールは、その扱いやすさ、また、含まれる色素量の多さの為、16世紀の初期より、欧州に大量に輸出され、欧州で使用されていた昆虫染料に代わって使用されるようになった。また、その後世界中に広まったと報告されている<sup>19</sup>。

Fig. 4 に、アルメニアコチニールとアメリカコチニールで染めた絹の試料からの抽出物の結果を波長 420nm のクロマトグラムで示した。アルメニアコチニールとアメリカコチニールに含まれる色素は、大変よく似ている。(Table 3) 一方、ラック、ケルメス、または、ポーランドのコチニールに含まれる色素やその比率は異なっている。アルメニアのコチニールとアメリカのコチニールの主要色素は、カルミン酸で、アカネの主要色素でもあるアントラキノン系の色素で、カルミン酸が、主な色素であるが、他にも微量に含まれている色素がある。2-C-フラボケルメシン酸のグルコピラノシド (dcII)、4-アミノカルミン酸 (dc III)、ケルメシン酸の 2-C- $\alpha/\beta$ -グルコフラボシド (dcIV と dcVII)、ケルメシン酸 (KA) とフラボケルメシン酸 (FA) が、Stathopoulou 他<sup>20</sup>の論文中的それらの化合物の紫外可視吸収スペクトルと比較した結果、今回分析したアルメニアとアメリカのコチニールの抽出液に含まれている可能性が示唆された。

非常に良く似た色素を含むアルメニアコチニールとアメリカコチニールを見分けることは、その染料を使用した染織品が作られた時代、地域、文化を考察するのに重要である。もしアメリカコチニールが欧州の染織品から見つけれられたならば、その染織品は明らかに、アメリカ大陸が発見され、そして、アメリカコチニールが16世紀の初めから欧州で使用された以降に作られたということになる。アメリカコチニールは、その作品のつくられた時代を知るための印となる染料の一つである。

微量色素の一つである、フラボケルメシン酸のグルコピラノシド (dcII) は、カルミン酸との比におい

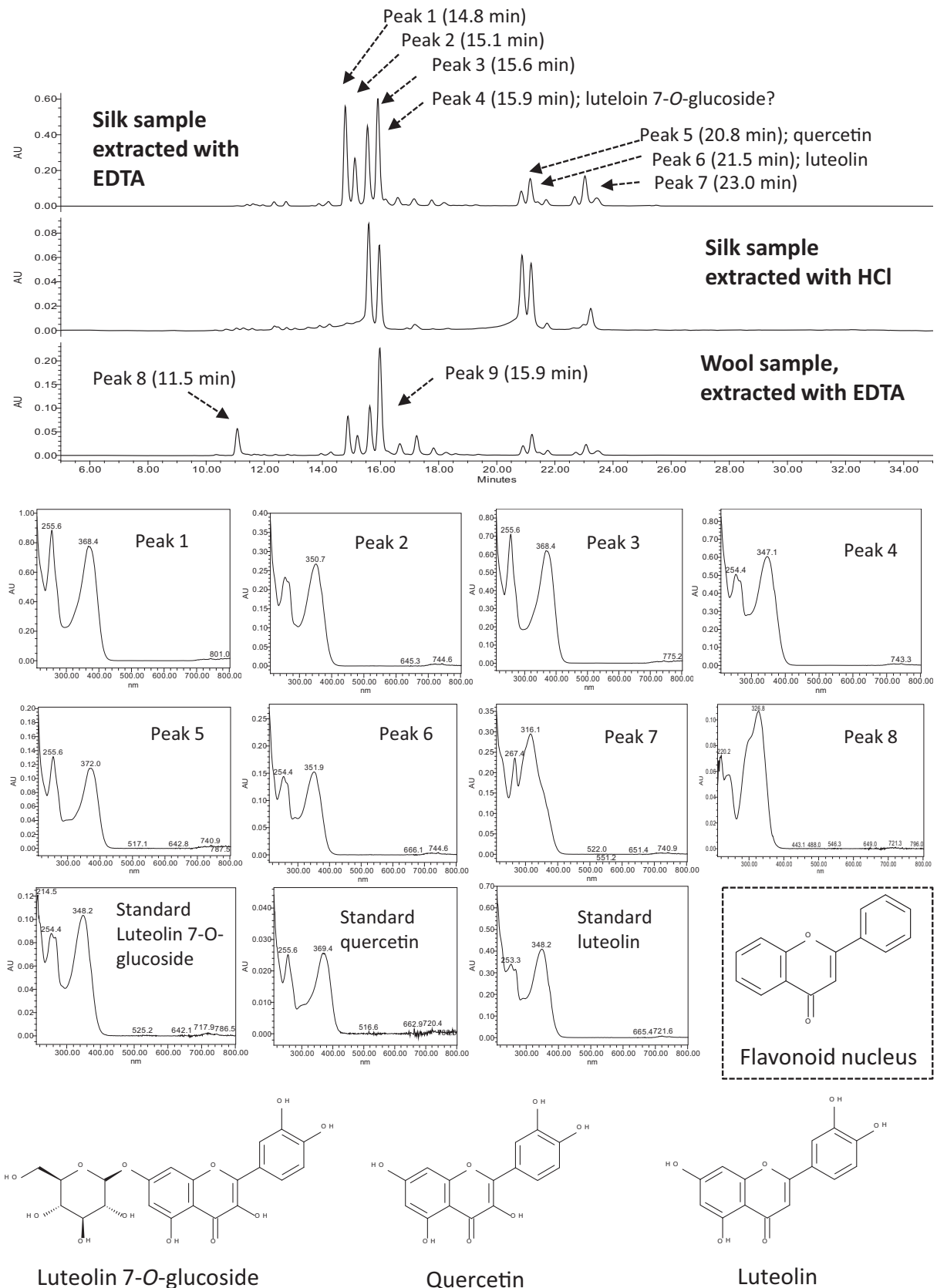


Fig. 5 Chromatograms at 350nm of the extracts from silk and wool samples dyed with the yellow plant dye (*Cephalaria procera*), and the UV spectra of the peaks detected in those chromatograms.

て、アルメニアコチニールよりも、アメリカコチニールに多く含まれており、その比を調べることにより、その二つの昆虫染料を見分けることができるという報告がされている<sup>21-22</sup>。しかしながら、かなりの確率で南アメリカで作られたことが分かっている染織品から、dcIIが検出されなかった場合もあり、dc IIが、経年や、使用した媒染剤、或いは他の要因により分解されるのか、今後の調査が必要となる。dc III (アミノカルミン酸) は、Fig. 4において、アルメニアコチニールの抽出物のクロマトグラムには検出されておらず、この色素で、ふたつの染料を見分ける可能性も考えられるが、dcIIと同様に、経年等による、この色素の安定性を調べる必要がある。

### 3.4.3 キバナマツムシソウ

アルメニアの黄色系植物染料のキバナマツムシソウ (*Cephalaria procera*) は、フラボノイド系の染料と思われる。フラボノイドは植物の二次代謝産物で、植物の色や紫外線吸収等のさまざまな機能を保持している<sup>23</sup>。フラボノイドのアグリコン (フラボノイドの配糖体の糖部分を除いた部分) は、C<sub>6</sub>-C<sub>3</sub>-C<sub>6</sub>の炭素骨格を持ち (Fig. 5のフラボノイド核を参照)、ヒドロキシ化、メチル化、グルコシル化により修飾されている<sup>24</sup>。フラボノイドを色素とする植物染料は、黄色植物染料の中で、一番多く見られるタイプで、よく知られているフラボノイド染料には、欧州のウェルド (*Reseda luteola*)、アジアのエンジュ (*Sophora japonica*)、中南米のフスチック (*Maclura tinctoria*) 等がある。

Ulubelen 他<sup>25</sup>が *Cephalaria procera* の花のフラボノイドを研究し、5種類のフラボノイド、ルテオリン、ケルセチン、ルテオリンの7-O-ジガラクトシド、ガランジンの3-O-グルコシド、ガランジンの7-O-グルコシドを、同定した。Cephalaria 科の他の種からは、ルテオリン7-O-グルコシド、ケルセチン7-O-グルコシド、ケルセチン3-O-アラビノシド7-O-グルコシド、ケルセチンが同定された<sup>26</sup>。

Fig. 5に、この黄色植物染料で染めた絹試料より抽出された350 nmのクロマトグラムを示した。20.8分と21.5分のピークはそれぞれ標品のケルセチンとルテオリンと同じ時間に流出し、同じ紫外可視吸収スペクトルを示したので、ケルセチンとルテオリンであると推察された。またUlubelen 他<sup>27</sup>の研究でもこれらのフラボノイドは同定されてる。同様に、15.9分のピークは標準品のルテオリン7-O-グルコシドと考えられる。しかしUlubelen 他<sup>28</sup>の研究において、Cephalaria 科の他の種からはこの化合物が見つけられているが、本試料のキバナマツムシソウからは、見出されていないことから、このピークが、ルテオリン7-O-グルコシドであるのか、または、紫外可視吸収スペクトルと保持時間が非常に似た化合物なのか、更に研究をする必要がある。他の主要なピークである、14.8、15.1、15.9分のピークは、まだ、同定されていないが、14.8分と15.9分のピークは、紫外可視吸収スペクトルが、ケルセチンと似ているため、ケルセチンの配糖体の可能性が推定される。また、それらのピークは、ケルセチンより早く出ており、ケルセチンの配糖体である可能性を示唆している (グルコシドは、通常、水溶性の糖が結合しているため、ここで使用したような逆相のカラムでは、そのアグリコンよりも流出する時間が早くなる)。また、アグリコンである、ケルセチン自身も、その抽出液から検出されており、ケルセチンの配糖体である可能性を支持している。15.1分のピークは、他の2つの主要ピークがケルセチンの配糖体であると推定した同様な理由で、ルテオリンの配糖体と推定される。

Fig. 5の一規定の塩酸の抽出液のクロマトグラムでは、14.8分と15.1分のピークが著しく減少し、ルテオリンとケルセチンのピークが増加している。この結果から、その2つのピークは、ケルセチンとルテオリンのO-グルコシド結合で、抽出中に塩酸により加水分解された可能性が考えられる。他の二つの主要ピーク (ピーク3と4) は、ほとんど減少していない様子で、これらの化合物は、加水分解に耐性の構造をしている可能性がある。23.0分のピークはまだ同定されていない。その紫外可視吸収スペクトルが

Fig. 5 に示してある。

今回の結果から、絹や羊毛のように異なった素材により、植物染料中の様々な化合物の親和性が異なる様子が観察されている。羊毛に染めた試料からの抽出液のクロマトグラムには、絹に染めた試料からの抽出液のクロマトグラムには見られなかったピークが11.1と15.9分（ピーク8と9、ピーク9は、ルテオリン7-O-グルコシドとほぼ同じ保持時間に流出してる）に検出された。ピーク11.1分の紫外可視吸収スペクトルは Fig. 5 に示してあり、また、15.9分のピークのスペクトルは、11.1分のスペクトルに非常によく似ていた。これらのピークの化合物の構造は同定できていないが、そのスペクトルから、フラボノイドの1種ではないかと推察される。

## おわりに

アルメニアの3種類の天然染料の（セイヨウ）アカネ、アルメニアコチニール、キバナマツムシソウの染色布を作成し、染色布の試薬呈色試験と HPLC-PDA 分析で化合物の同定を試みた。その結果、試薬呈色試験では、色素が類似する染料どうしを見分けるのは困難であるが、ある程度の判別をすることは可能で、実験室機能のない保存修復室でも実施できることが分かった。HPLC-PDA 分析では、染料中の色素化合物の分離がなされ、標品のあるものは分離された化合物の推定ができた。また、それらの染料毎の特徴的なクロマトグラムで染料の識別が可能であることが分かった。よく似た色素化合物を含む染料の識別は、経年や染料過程の違いによる色素化合物の変化を考慮に入れた更なる調査が必要である。また、HPLC 分析により、羊毛、絹に染着されている色素化合物の違いを示すことができ、素材と pH の違いによる染色布の色差の原因を考察できた。

本研究によりアルメニアの天然染料染色布の試薬呈色および HPLC-PDA 分析に関する基本的な情報がえられたので、アルメニアの染織文化財に使用された染料の鑑別が実施できるようさらに研究を進めてゆく予定である。

## 謝辞

本研究を行うにあたり、国際交流基金、東京文化財研究所、アルメニア国立歴史博物館の皆様にご礼申し上げます。

## 脚注

1. 石井美恵、有村誠、横山翠『アルメニア歴史博物館における染織品保存修復ワークショップ2011-2014事業報告』、国際交流基金、2014年。
2. 本稿の高速液体クロマトグラフィーの分析にかかわる箇所は石井美恵『日本とアルメニアの文化遺産保護の国際協力-博物館における染織文化財の保存』国際交流基金（2014）に柴山が寄稿した論文（pp. 124-128）に基づいている。これに標準染色布の染色と染料の呈色試験を加えて共同で報告する。なお実験に供した染料の生物学的属性について鑑別はしておらず、現地で聞き取りをして該当した植物名を本稿では使用している。
3. Dominic Cardon. 2010. *Natural Dyes: Sources, Tradition, Technology and Science*. London: Archetype.
4. Eranz Altundag and Munir Ozturk. 2011. Ethnomedical studies on the plant resources of east Anatolia, Turkey. *Procedia Social and Behavioral Sciences* 19, pp. 756-777.
5. A. Ulubelen, S. Oksuz, Y. Aynehchi and A. Siامي. 1978. Flavonoids of *Cephalaria procera*. *Lloydia* 41(5), pp. 435-436. Medical uses of *Cephalaria procera* are for cold, cough, pulmonic disorders, cardiotonic.
6. Helmut Schweppe. 1986. *Practical Hints on Dyeing with Natural Dyes: Production of Comparative Dyeing for the Identification of Dyes on Historic Textile Materials*. Sponsored by the Conservation Analytical Laboratory of the Smithsonian Institution.

- tion, 15th through 19th September 1986. Washington D.C.: Smithsonian Institution.
7. Helmut Schweppe. 1988. *Practical Information for the Identification of Dyes on Historic Textile Materials*. Washington D.C.: Smithsonian Institution.
  8. Marco Leona and John Winter. 2001. Fiber optic reflectance spectroscopy: unique tool for investigation of Japanese paintings, *Studies in Conservation* 46, pp. 53-162.
  9. Marco Leona, Francesca Casadio, Mauro Bacci and Marcello Picollo. 2004. Identification of the pre-Columbian pigment Mayablu on works of art by noninvasive UV-Vis and Raman spectroscopic techniques, *Journal of American Institute for Conservation* 43, pp. 39-54.
  10. Marco Leona, Jens Stenger and Elena Ferloni. 2006. Application of surface-enhanced Raman scattering techniques to the ultrasensitive identification of natural dyes in works of art, *Journal of Raman Spectroscopy*, 37, pp. 81-992.
  11. Nobuko Shibayama, Ryohei Yamaoka and Masanori Sato. 2005. Analysis of coloured compounds found in natural dyes by thermospray liquid chromatography-mass spectrometry (TSP LC-MS) and a preliminary study of the application to analysis of natural dyes used on historic textiles, *Dyes in History and Archaeology* 20, pp. 51-69.
  12. Xian Zhang and Richard Laursen. 2009. Application of LCMS to the analysis of dyes in objects of historical interest, *International Journal of Mass Spectrometry* 284, pp. 108-114.
  13. Helmut Schweppe. 1979. Identification of dyes on old textiles, *Journal of American Institute for Conservation* 19, pp. 14-23.
  14. Judith H. Hofenk de Graaff. 2004. *The Colorful Past: Origins, Chemistry and Identification of Natural Dyestuffs*. London: Archetype Publications.
  15. Chika Mouri and Richard Laursen. 2012. Identification of anthraquinone markers for distinguishing Rubia species in madder-dyed textiles by HPLC, *Microchimica Acta* 179, pp. 105-113.
  16. Dominic Cardon. 2007. *Natural Dyes: Source, Tradition, Technology and Science*. London: Archetype Publication.
  17. 前掲書。
  18. 註16。
  19. Elena Phipps. 2010. *Cochineal Red: The Art History of a Color*. New York: The Metropolitan Museum of Art.
  20. Konstantina Stathopoulou, Lemonia Valianou, Alexios-Leandros Skaltsounis, Ioannis Karapanagiotis, and Prokopios Magiatis. 2013. Structure elucidation and chromatographic identification of anthraquinone components of cochineal (*Dactylopius coccus*) detected in historical objects, *Analytica Chimica Acta* 804, pp. 264-272.
  21. Jan Wouters and Andre Verhecken. 1989. The scale insect dyes (Homoptera: coccioidea). Species recognition by HPLC and diode-array analysis of the dyestuffs, *Annales de la Société entomologique de France* 25, pp. 393-410.
  22. Jan Wouters and Andre Verhecken. 1989. The coccid insect dyes: HPLC and computerized diode-array analysis of dyed yarns, *Studies in Conservation* 34, pp. 189-200. アルメニアコチニール (*Porphyrophora hameli* Brandt.) の成分は carminic acid (95-99%)、flavokermesic acid/ kermesic acid (1.0-4.2%)、dcII (1.4-3.8%) と報告している。
  23. Jeffery B. Harborne and Herbert Baxter eds. 1999. *The Handbook of Natural Flavonoids*. West Sussex: John Wiley & Sons.
  24. K.R. Markham. 1982. *Techniques of Flavonoid Identification*. London: Academic Press.
  25. 註5。
  26. 前掲書。
  27. 註24。
  28. 註25。



## Reagent Color Test HPLC-PDA Analysis of Armenian Natural Dyes, Madder, Armenian Cochineal and Yellow Scabiosa

Mie ISHII\*, Nobuko SHIBAYAMA\*\*

### Abstract

This study is aimed to enabled the future analysis of natural dyes used in Armenian historic textiles. In a reagent color test, the color reaction of the dyed test fabric was observed using acetic acid, ammonia and distilled water. The madder (toron in Armenian) dyed silk sample matched with known Dyer's madder, Armenian cochineal (vordan karmir in Armenian) matched with a known American cochineal and yellow scabiosa (gentapi in Armenian) matched with a known flavonoid dye. HPLC-PDA analysis detected alizarin, purpurin and munjistin from the madder fabric, indicated that the dye was *Rubia tinctorum*. The Armenian cochineal fabric showed 2-C-flavo-kermesic-acid and glucopil-acid (dcII), 4-amino-carminic-acid (dc III), 2-C- $\alpha/\beta$ -gluco-fluornosid of kermesic-acid (dc IV and dc VII), kermesic acid (KA) and flavo-kermesic acid (FA). These compounds are also present in American cochineal and from this study alone, it was not possible to differentiate the two insect dyes. From the yellow scabiosa, quercetin, luteolin, and luteolin-7-O-glucoside was detected, indicating that the dye was a flavonoid type.